

17) 当科における閉鎖型睡眠時無呼吸症候群 (OSAS) の治療

○加藤 理彦, 長谷川良樹, 高良 孔明
有馬 哲夫, 高田 訓, 大野 敬
(奥羽大・歯・口腔外科)

(緒言) 睡眠時無呼吸症候群は、睡眠中の気道閉塞により無呼吸、低呼吸を生じ、著しい日中傾眠など様々な症状を呈し日常生活に支障をきたすと言われている。当科では、睡眠時無呼吸症候群の治療に対し下顎前方牽引型スプリントによる治療を行っている。そこでスプリント治療を行っている患者の臨床的検討とスリープスプリントの効果について検討した。

(期間および対象) 期間は2001年1月より2004年4月までの3年4か月間で、検索対象は男性26例、女性4例、計30例とした。

(方法) 初診患者の推移、主訴、来院経路、既往歴・既往症、スリープスプリントの移動量の検討および、スリープスプリントによる装着前後の検査結果の比較を行った。

(結果) 初診患者の推移は2003年2月の新幹線の事故以降増加傾向が見られた。当科では、いびきが主訴である患者が最も多く、次いで無呼吸すなわち睡眠中に息が止まることを指摘された患者、熟睡出来ない患者の順に見られた。来院経路に関しては、耳鼻科からの紹介が最も多く、次いで総合歯科からの紹介が多かった。既往歴・既往症では、該当なしの患者が半数を占めたが、高血圧症の既往がある患者が最も多く、高脂血症、糖尿病、脳梗塞、不整脈の順に見られた。高血圧症既往患者12例のうち3例においてはスリープスプリントにより血圧の改善が見られた。移動量に関しては、顎関節部や周囲筋の自発痛が無く歯周組織に影響のない距離に設定した。無呼吸回数、最長無呼吸時間、平均酸素飽和度、90%未満酸素飽和度率がスリープスプリントにより改善が見られた。

(結論) 下顎前方牽引型スプリントにより、睡眠時無呼吸症候群の症状改善が見られた。また、2004年4月1日より歯科診療報酬の改訂に伴い睡眠時無呼吸症候群に対するスリープスプリント治療が保険適応となり、今後、歯科領域での治療が

多くなることが示唆された。

18) リアルタイムPCRを用いた歯面初期付着細菌の定量法の開発

○鈴木 奈央, 清浦 有祐
(奥羽大・歯・口腔病態解析制御)

(目的) 近年口腔細菌の検出法として、PCR法やリアルタイムPCR法が普及している。これらの遺伝学的同定法には、特異プライマーとプローブの設計が重要である。ところが全塩基配列が解読されていない菌種ではデータベースに基づく設計ができない。そこで本研究では、サブトラクティブハイブリダイゼーションを用いて4種類の歯面初期付着細菌の特異遺伝子断片をクローニングし、挿入塩基配列をもとに設計したプライマーとプローブを用いてリアルタイムPCRによる定量法を開発した。

(方法) 歯面初期付着細菌のうち *S. gordonii* DL1株, *S. mitis* 903株, *A. naeslundii* ATCC 51655株, *A. viscosus* ATCC 43146株についてサブトラクティブハイブリダイゼーションを行った。前者2菌種のドライバードNAとして *S. oralis* ATCC 10557株を, *Actinomyces* 2菌種については相互に使用した。まず制限酵素で切断した目的細菌のDNA断片にアダプターを結合させた。次に大過剰量のドライバードNAに対してハイブリダイズした後、プライマーとしてアダプターを用いてPCRを行い目的細菌の特異遺伝子断片のみを増幅した。作製したcDNAライブラリーのデータベース解析をもとに、挿入塩基配列内からプライマーとプローブを設計した。

(結果) 設計したプライマーは、様々な口腔細菌を用いたPCR評価でも目的細菌に特異性を示した。次にこれらのプライマーとプローブを用いて、段階希釈した溶菌試料のリアルタイムPCRを行ったところ、いずれもおおよそ101から106 CFUの範囲で定量的検出が可能であった。さらに作製した検量線を用いて、デンタルプラークからこれらの細菌を定量することができた。

(結論) リアルタイムPCRを用いた歯面初期付着細菌の定量法の開発は、カリエスのリスク診断と予防、バイオフィルム形成メカニズムの解

明に役立つものと期待できる。また、サブトラクティブハイブリダイゼーションを用いることにより、データベースにない細菌について特異遺伝子を同定し、プライマー、プローブを設計できることが明らかになった。

19) ステロイド誘導性骨粗鬆症の骨芽細胞における機能異常の解析

—c-fos活性化およびFos合成に及ぼすDexの効果—

○倉橋 出, 松沼 礼子¹, 川根 徹也¹

阿部 匡聡¹, 堀内 登¹, 大野 敬

(奥羽大・歯・口腔外科, 口腔機能分子生物¹)

われわれは以前、骨芽細胞においてデキサメサゾン (Dex) がFosの合成を促進させ、24-水酸化酵素遺伝子プロモーター領域のビタミンD応答配列 (VDRE) とAP-1部位が相互に活性化されて同遺伝子の発現を著明に上昇させることを明らかにした。本研究では、1,25(OH)₂D₃で前処理した骨芽細胞様細胞のUMR-106を用いて、特にc-fos活性化およびFosの合成に及ぼすDexの効果について検討したので報告した。

(1) c-fos mRNA発現量はDex添加後30~40分でピークに達し、コントロールに対して約4倍に上昇した。(2) Fosの発現はmRNA発現よりも少し遅れ、Dex添加後30分でコントロールに対し有意な上昇を示し、60分でピークに達して、90分まで有意な上昇が持続した。また、Fos タンパクの強力な誘導物質であるTPAの場合では、添加後60分で明らかな上昇が認められた。(3) c-fos mRNA発現に及ぼすTPAの影響について検討した。TPA添加後10分からc-fos mRNA発現量はコントロールに対し有意な上昇を示し、30分で最大に達した。この結果からTPAはc-fos mRNA発現量を著明に上昇させることが示された。(4) 24-水酸化酵素の遺伝子発現に対するTPAの効果について検討した。24-水酸化酵素mRNAの発現量はTPA添加後4時間でコントロールに対し有意な上昇を示し、6時間でピークに達した。この結果からTPAは24-水酸化酵素mRNA発現量を増加させることが明らかになった。(5) TPAはPKC (プロテインキナーゼC) を活性化することが知

られている。UMR-106においてPKC inhibitorであるRO 31-8220の存在下では、Dexにより誘導された24-水酸化酵素mRNAの発現促進は完全に消失した。このことから、Dexによる24-水酸化酵素発現促進がPKCの経路を介したものであることが明らかになった。